

# 粪便核酸提取试剂盒

Fecal Nucleic Acid Extraction Kit



**产品货号：** M7426S, M7426M

**产品规格：** 20 rxns, 100 rxns

**储存条件：** 2~8°C保存，有效期见外包装

**应用范围：** 粪便样本中核酸的提取、富集、纯化等

## 产品组分

组分	组分含量	
	M7426S	M7426M
A. 裂解液	12 mL	60 mL
B. 结合液	6 mL	30 mL
C. 磁珠悬液	0.4 mL	2 mL
D. 洗涤液 A	15.2 mL (首次使用前请加入 0.8 mL 的异丙醇)	76 mL (首次使用前请加入 4mL 的异丙醇)
E. 洗涤液 B	8 mL (首次使用前请加入 8 mL 的异丙醇)	40 mL (首次使用前请加入 40 mL 的异丙醇)
F. 洗涤液 C	8 mL (首次使用前请加入 32 mL 的无水乙醇)	40 mL (首次使用前请加入 160 mL 的无水乙醇)
G. 洗脱液	5 mL	25 mL
H. 蛋白酶 K	4 mg	20 mg
I. 溶液 A	0.4 mL	2 mL

注：需用户自备异丙醇（分析纯）、无水乙醇（分析纯）。

## 产品介绍

粪便样本中的人脱落细胞以及肠道菌群经裂解后核酸释放，利用磁珠与核酸特异性高效结合，并利用磁性分离器或磁棒使磁珠吸附于管壁或磁棒套，通过洗涤、洗脱过程得到所需的核酸。不同来源的固体和液态粪便样本使用前请充分混合，防止样本不均一。

## 适配仪器

本试剂盒适用于磁珠法吸附原理的自动化核酸提取仪，也可进行手工提取。

## 实验步骤

### 一. 手动操作流程

#### 首次使用前：

1. 在洗涤液A中加入指定量（见瓶身标签）的异丙醇，并于“□”内打上“√”，混匀后于室温下密闭保存。



UElandy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelandy.com

2. 在洗涤液B中加入指定量（见瓶身标签）的异丙醇，并于“□”内打上“√”，混匀后于室温下密闭保存。
3. 在洗涤液C中加入指定量（见瓶身标签）的无水乙醇，并于“□”内打上“√”，混匀后于室温下密闭保存。
4. 在蛋白酶 K 干粉中加入指定量（见管身标签）的溶液 A，并于“□”内打上“√”，混匀后于2~8°C保存，或分装后于-20°C保存。

## 二. 客户自备物品

1. 1.5 mL离心管：2个/样品
2. 2 mL离心管：1个/样品
3. 单通道移液器：20  $\mu$ L、200  $\mu$ L、1000  $\mu$ L
4. 漩涡振荡器
5. 离心机
6. 恒温金属浴（或水浴锅）：70°C/55°C
7. 磁性分离器

## 三. 操作步骤（以200 mg粪便样本为例，1 g样本加样要求参见表1）：

1. 样本采集：移取180 mg-220 mg粪便样本到2mL离心管中。
2. 裂解

（1）在上述2 mL离心管中加入600  $\mu$ L的裂解液（使用前65°C水浴5-10 min至溶液澄清），再加入20  $\mu$ L的蛋白酶K（检查是否已加入溶液 A），调整合适的转速漩涡振荡1 min，使其充分混合，再将离心管置于70°C加热20 min，90°C加热10 min，期间震荡混匀三次。

（2）13000 rpm离心 3 min，取300  $\mu$ L上清至一个新的1.5 mL EP管中。若为1 g粪便样本体系，取上清1.5 mL至新的15 mL EP管中。

3. 结合：在上述1.5 mL离心管中加入300  $\mu$ L结合液，200  $\mu$ L异丙醇，20  $\mu$ L 磁珠悬液，震荡混匀30 s，室温结合5 min，期间颠倒混匀两次，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。

注：此步骤磁性分离时间应不少于2 min。

### 4. 洗涤

（1）加入800  $\mu$ L洗涤液A，震荡混匀30 s，室温下静置1 min，期间上下颠倒混匀一次，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。

（2）加入800  $\mu$ L洗涤液B（检查是否已加入异丙醇），震荡混匀30 s，室温下静置1 min，期间上下颠倒混匀一次，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。

（3）加入800  $\mu$ L洗涤液C（检查是否已加入无水乙醇），震荡混匀30 s，室温下静置1 min，期间上下颠倒混匀一次，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器移去上清液并取下离心管。

（4）重复步骤（3）一次（若为1 g粪便样本体系，该步仅加入1 mL洗涤液 C，震动混匀后转移至1.5 mL EP管中）。

注：步骤（4）应尽量除尽洗涤液。

5. 干燥：保持离心管于磁力架上，将其置于超净工作台中风干至磁珠表面无明显光泽（5-7 min）。

6. 洗脱：加入50  $\mu$ L 65°C预热的洗脱液，震荡混匀30 s，于65°C加热5 min后，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，转移上清液至新的1.5 mL离心管中，此即为纯化得到的基因组DNA，可保存于-20°C。



**表1. 不同样本量对应使用的反应管规格和试剂加入量**

反应管/试剂	200 mg	1g
反应管规格	2 mL	15 mL
蛋白酶 K	20 $\mu$ L	100 $\mu$ L
粪便样本	200 mg	1 g
裂解液	600 $\mu$ L	3 mL
结合液	300 $\mu$ L	1.5 mL
异丙醇	200 $\mu$ L	1 mL
磁珠悬液	20 $\mu$ L	40 $\mu$ L
洗涤液 A	800 $\mu$ L	4 mL
洗涤液 B	800 $\mu$ L	4 mL
洗涤液 C	800 $\mu$ L	4 mL
洗脱液	50 $\mu$ L	100 $\mu$ L

## 二、自动化操作流程

可以适配市面上大部分品牌核酸提取仪，详细参数请联系我司技术支持或设备厂商技术支持。

## 注意事项

1. 操作之前，请务必认真阅读本产品手册。
2. 提取效果与粪便样本质量有关。
3. 蛋白酶K干粉溶解后，可分装储存于-20 $^{\circ}$ C，但应避免反复冻融。
4. 应避免对磁珠进行冷冻、离心等操作。
5. 磁珠取用前应充分重悬均匀。
6. 磁珠干燥前，应用移液器吸尽洗涤液；应避免磁珠过度干燥，否则会严重降低核酸洗脱效率。
7. 建议使用质量较好的离心管和移液器吸头，避免因粘附磁珠而造成损失。
8. 本产品使用后请按医疗垃圾进行处理。
9. 使用前请检查各组分是否存在析出情况，如有析出，请将试剂瓶置于60 $^{\circ}$ C水浴加热溶解后使用。

